Untersuchungen mit einer Methodik des Latex-Fixations-Testes mit erhöhter Trefferquote

Armand Leroux

1967

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Untersuchungen mit einer Methodik des Latex-Fixations-Testes mit erhöhter Trefferquote

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von
Armand Leroux
München

1967

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Priv. Doz. Dr. H. Mathies
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz
Dekan : Prof. Dr. M. Kiese
Tag der mündlichen Prüfung: 24.1.1967

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Einleitung.

Der Rheumafaktor und seine Bestimmungsmethoden.

Bei der primär chronischen Polyarthritis (PCP) sind im Blutserum sogenannte Rheumafaktoren (RF) nachzuweisen, welche die Eigenschaft haben, mit Gamma-Globulin zu reagieren. Es handelt sich bei diesen Rheumafaktoren beziehungsweise diesem Rheumafaktor um ein Serumprotein, welches zwar noch nicht vollständig präzisiert werden kann, über dessen Natur jedoch durch zahlreiche Untersuchungen teilweise Kenntnis erlangt worden ist. WAALER (69) fand es in der Globulinfraktion, ohne dabei eine quantitative Beziehung zwischen Globulinmenge und RF-Aktivität festzustellen. Bei der Cohn-Fraktionierung des Serums findet sich die agglutinationsfördernde Substanz in der III. Fraktion, welche Beta-Lipoide, Alpha- und Gamma-Globuline enthält (27), während sie in der Papierelektrophorese mi den Beta-Gamma-Globulinen wandert (1, 33, 43, 51, 68).
Untersuchungen mit der Ultrazentrifuge von CLEVE und BEHREND (3), SVARTZ (61, 62) und MÜLLER-EBERHARD (47) ergaben bei Rheumaserum neben der physiologischen Komponente mit 19 S und einem Molekulargewicht von 900 000 sowie jener mit 7 S und einem Molekulargewicht von 160 000 eine 22 S-Komponente, die serologisch hoch aktiv war. Nach KUNKEL (32) und MÜLLER-EBERHARD (47) dissoziiert dieser Komplex in eine 19 S- und eine 7 S-Fraktion im Verhältnis von 43 % zu 57 % reversibel. Diese 19 S-Fraktion unterscheidet sich von der physiologischen nur durch die serologische Aktivität. Neben 22 S-Komplexen wurden in PCP-Seren auch solche mit Sedimentationskonstanten von 10 - 15 S festgestellt (32). Weitere Aufklärung über die Lokalisation des RF im Serumeiweißspektrum lieferte die Immunelektrophorese. BEHREND und CLEVE (3) verwendeten hierbei ein durch präparative Ultrazentrifugation gewonnenes Makroglobulinpräparat, das den agglutinierenden Serumfaktor angereichert enthielt und fanden dabei eine Vermehrung der $Beta_{2M}$-Globuline.

MATHIES (35) diskutiert neben dem RF als $Beta_2$-Makroglobulin mit einer S_{20}-Rate von 19 eine im Gamma-Globulin-Bereich lokalisierte serologisch aktive Komponente mit Cohn-Fraktion II-Charakter und einer S_{20}-Rate von 7. Den bei PCP auftretenden $Beta_{2M}$-Globulinen kommen keine spezifischen Antigeneigenschaften zu (35, 57). Chemische Untersuchungen des isolierten RF ließen Ähnlichkeit in der Kohlenhydratzusammensetzung mit der physiologischen 19 S-Gamma-Globulinfraktion erkennen; die prozentuale Zusammensetzung der Aminosäuren ähnelt der des 7 S-Gamma-Globulins(72).

Während gegen eine Komplementnatur des RF die Tatsache spricht, daß Komplement bei 56°C inaktiviert wird, der RF aber bei 10-minütigem Erhitzen auf 66°C noch aktiv bleibt, ist die Diskussion über die Frage, ob der RF ein Antikörper ist, noch nicht abgeschlossen.

Bezüglich des Reaktanten konnte EDELMANN (14) zeigen, daß der RF am besten mit erhitztem oder mit mit Harnstoff oder Methylmercaptan behandeltem Gamma-Globulin in Reaktion tritt. Die gesteigerte Reaktivität ist auf Aggregatbildung des Gamma-Globulins zurückzuführen (9, 14). Zonenultrazentrifugation aggregierten Gamma-Globulins lieferte S_{20}-Werte von über 20 S. EDELMANN (14) konnte auch RF-Bindung an größere lösliche Antigen-Antikörperkomplexe beobachten. Elektrophoretisch gewonnenes, also nicht aggregiertes Gamma-Globulin reagiert, wenn es nicht adsorbiert ist, im allgemeinen nicht mit dem RF. Es bindet vor der Adsorption auch nicht Komplement; während dieses nach erfolgter Anlagerung fixiert wird (14). Es wird angenommen, daß das bei der Sensibilisierung oder unspezifisch zum Beispiel an Latexpartikel angelagerte Gamma-Globulin eine Strukturveränderung erfährt und somit für den RF reaktionsfähig wird (4). EDELMANN (14) konnte die Reaktionsaktivität zwischen dem RF und Gamma-Globulin durch Jodacetamid einschränken; es wird dabei die Bildung der Disulfidbrücke bei der Aggregation blockiert.

Pathogenetische Bedeutung kommt dem RF wohl nicht zu, dagegen ist sein Nachweis, der leider oft erst längere Zeit nach klinischer Krankheitsmanifestation gelingt, bei der differentialdiagnostischen Abgrenzung der primär chronischen Polyarthritis gegen andere Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises ein wertvolles Hilfsmittel.

Die Nachweismethoden für den RF beruhen auf dessen Eigenschaft, mit Gamma-Globulin zu reagieren, wobei im allgemeinen eine Trägersubstanz als Indikator der Reaktion verwandt wird. Die Nachweismethode soll möglichst empfindlich und spezifisch sein, also bei geringstem Prozentsatz falsch positiver Ergebnisse noch kleinste Mengen RF-Aktivität aufdecken.

Als erster Test dieser Art ist die Agglutination von Streptokokken durch PCP-Seren anzusehen (7). Man nahm zuerst einen spezifisch gegen die Bakterien gerichteten Antikörper an. Es handelt sich jedoch um eine RF-Gamma-Globulin-Reaktion, wobei sich das Gamma-Globulin als in jedem Serum vorhandener Streptokokkenantikörper vorher an die Bakterien anlagert. Bei Verwendung Beta-hämolytischer Streptokokken der Gruppe A wurden 50 % positive Ergebnisse bei 6 % falsch positiven erhalten; andere Bakterienstämme erhöhten den Prozentsatz der falsch positiven Befunde bis zu 28 % (21).

Die eigentliche Rheumaserologie begann mit der Einführung der Hämagglutinationsteste. WAALER (69) hatte bei seinen Untersuchungen mit sensibilisierten Schaferythrozyten bei 77 Rheumaseren in 35 % eine Agglutination erhalten. ROSE und Mitarb. (51) stellten fest, daß nicht nur, wie schon von MEYER (39) angegeben, sensibilisierte Schaferythrozyten sondern auch unbeladene Blutkörperchen bis zu einem gewissen Grade von Rheumaseren agglutiniert werden. Der von diesen Autoren daraufhin entwickelte Test (Waaler-Rose-Test) ergibt einen Differentialagglutinations-

titer (= Titer des Rheumaserums mit unsensibilisierten Schafblutkörperchen : Titer mit sensibilisierten Schaferythrozyten), welcher ab einem Wert von 1:16 als positiv im Sinne einer PCP angesehen wird. Die 27 Seren von Patienten mit aktiver PCP waren mit dieser Methode alle positiv, während bei inaktiver PCP nur in 50 Prozent ein positives Ergebnis erreicht wurde (51). Andere Untersucher mit zum Teil größerem Krankengut hatten in 38 % - 88 % positive Werte, die Mehrzahl lag um 65 %, zit. bei KÖHLER (31). Die Spezifität des Verfahrens ist jedoch nicht sehr hoch, besonders im Fall von hochtitrigem heterophilen Antikörper und einem niederen RF-Titer (51). HELLER und Mitarb. (24) sowie SVARTZ und SCHLOSSMANN (65) entfernten den sogenannten Forssmann-Antikörper durch vorheriges Waschen mit unsensibilisierten Erythrozyten und konnten dann mit dem RF die reale Titerhöhe bestimmen. Komplement wird durch 30-minütiges Erhitzen auf 56°C inaktiviert. HELLER und Mitarb. (24) konnten mit diesem Test (Heller-Svartz-Schloßmann-Test) den RF bei 39 Patienten mit röntgenologisch feststellbaren Gelenkveränderungen in 35 Fällen nachweisen. Die Seren von Patienten ohne Gelenkveränderungen und die der Kontrollen waren bis auf zwei Hepatitisfälle negativ.

Der Heller-Svartz-Schlossmann-Test wird heute vielfach durchgeführt. Nach ZIFF (74) fällt er in 44-94 % der PCP-Fälle positiv aus bei 1-13 % falsch positiven Ergebnissen. Die Zusammenstellung zahlreicher Untersuchungsergebnisse bei KÖHLER (31) läßt eine ähnlich unterschiedliche Trefferquote erkennen. Die erheblichen Differenzen in den Befunden sind bedingt durch unterschiedliche Auswahl des Krankengutes, abweichende Untersuchungsmethoden und sicher auch unterschiedliche Interpretation der Ergebnisse; es können zum Beispiel kleine Unterschiede in der Amboceptorkonzentration die Werte erheblich verändern (31).

Im Hämagglutinationstest zum Nachweis des RF werden außer Schaferythrozyten auch rote Blutkörperchen anderer Tierarten sowie menschliche Erythrozyten benutzt (29, 70). Im letzteren Fall verwendet man patienteneigene Erythrozyten, die mit spezifischem Kaninchenantikörper sensibilisiert sind oder Erythrozyten der Gruppe O rh Ø, wobei sich bei dieser Gruppe, die keine Agglutinogene enthält, die Entfernung eines heterophilen Antikörpers erübrigt (20). Es eignen sich auch Rh + Zellen, die mit inkomplettem Anti-D sensibilisiert wurden. Nach MIEHLKE und Mitarb. (41) ist die Trefferquote jedoch sehr variabel und abhängig von den verwendeten Blutkörperchen. So erhielten sie neben sehr befriedigenden Ergebnissen auch das Gegenteil. Bei KÖHLER (31) wird der Prozentsatz positiver Befunde mit 45, 61,2 und 66 Prozent angegeben.

Zur Erreichung einer höheren Trefferquote im Hämagglutinationstest arbeiteten einige Autoren mit durch teilweise Serumfraktionierung eingeengtem Ausgangsmaterial. SVARTZ und SCHLOSSMANN führten eine CO_2-Fraktionierung des Serums durch und verwendeten sowohl ein Kälte- als auch ein Ammoniumsulfatpräzipitat zum RF-Nachweis (66, 67, 68). Vorhergehende Absorption entfällt bei diesem Verfahren. Nach SVARTZ (68) fällt der Test mit dem bei 4°C erhaltenen Präzipitat in 95 % der PCP-Fälle positiv aus. Zum Unterschied zu dem Kältepräzipitat von PCP-Seren, in welchem SVARTZ den RF angereichert fand, konnte die Autorin das bei Lupus erythematodes diss. auftretende Anti-Gamma-Globulin nach erfolgter Kältepräzipitation überwiegend im Überstand nachweisen. MATHIES (35) dagegen stellte in Übereinstimmung mit MICHELI und Mitarb. (40) beim Vergleichen der RF-Aktivität im Kälte- und Salzpräzipitat mit dem jeweiligen Überstand keine Aktivitätsanreicherung in einer Fraktion fest. MATHIES berichtet sogar, daß alle auftretenden falsch positiven Ergebnisse mit dem Kältepräzipitat erhalten wurden (35).

HARTER (23) erzielte mit dem Kältepräzipitat im Hämagglutinationsverfahren 74 % positive Befunde, BLACK et al. 51 % (6) und ZIFF et al. 65 % (75). Letztere untersuchten auch mit einer durch Dialyse gegen Phosphatpuffer gewonnenen Euglobulinfraktion des Rheumaserums, wobei sie Titer ab 1:16 als positiv bewerteten. ZIFF et al. (75) berichten über 92 % und HASS, zit. bei KÖHLER (31), berichtet über 91 % positive Befunde bei nur 2-7 % falsch positiven Ergebnissen. CRAIG, zit. bei KÖHLER (31), erhielt mit dieser Methode eine Trefferquote von 86 %, BLACK et al., zit. bei KÖHLER (31), erreichten 71 % und bei MIKKELSEN, zit. bei KÖHLER (31), waren 97 % der Seren von Patienten mit Rheumaknötchen und 74 % solcher ohne Knötchen positiv. Mit Vollseren, welche im Agglutinationsversuch negativ waren, erhielten ZIFF et al.(75) unter Verwendung deren Euglobulinfraktion gelegentlich positive Resultate. Es wird also mit "eingeengtem RF" eine recht hohe Trefferquote bei ausreichender Spezifität erreicht; doch sind diese Untersuchungsmethoden wegen des technischen Aufwandes nur großen Laboratorien vorbehalten.

HELLER und Mitarb. (25) sowie WINBLAD (71)konnten nachweisen, daß durch Zugabe gewisser tierischer Seren zu Rheumaserum der Titer im Hämagglutinationstest angehoben wird. Bei dem auf dieser Erkenntnis aufgebauten sogenannten Heller-Test oder Serum-Erythrozyten-Agglutinationstest (SEA-Test) wird als Verdünnungsmittel Schafserum genommen, da es sich als am besten geeignet erwies. Neben dieser Serumverdünnungsreihe läuft eine solche mit Salzlösung. Bei positivem Ausfall soll der Titer des mit Schafserum verdünnten Systems mindestens vier mal höher sein als jener mit Salzlösung als Verdünnungsmittel erreichte Titer. Titer von Normalseren werden durch Schafserum nicht potenziert. HELLER und Mitarb. (25) registrierten mit dieser Methode eine Trefferquote von 85 % bei 1,6 % falsch positiven Ergebnissen. Andere Autoren wie JAQUELINE et al., zit. bei KÖHLER (31), ZIFF et al. (75) und BARTFELD et al. (2) geben in ca. 65 % der PCP-Fälle positive Resultate an.

Weiter berichteten HELLER und Mitarb. (25) über die inhibitorische Fähigkeit der Cohn-Fraktion II (Gamma-Globulin) menschlicher Seren auf die agglutinatorische Aktivität eines positiven Rheumaserums im Hämagglutinationstest und den auf dieser Tatsache fußenden sogenannten F II SC-Test (26). Hierbei werden mit Tanninsäure behandelte Schaferythrozyten mit menschlichem Gamma-Globulin (Cohn-Fraktion II) beladen und dann mit Rheumaserum getestet. Der Test ist positiv bei vollkommener Agglutination der Blutkörperchen ab einer Verdünnung von 1:28. Verdünnt wird das zu untersuchende Serum mit Salzsäure. Die Ergebnisse entsprechen nach HELLER und Mitarb. (26) im großen und ganzen denen des SEA-Verfahrens. BARTFELD (2) berichtet über eine Trefferquote von 75 %. JACOBSEN und Mitarb. (30) erhielten mit dem SEA-Test bei 331 PCP-Patienten 62 % und mit dem F II-Test bei 180 PCP-Patienten 69 % positive Resultate. Bei Patienten mit Rheumaknötchen stieg die Trefferquote auf 90 % mit dem SEA- und auf 92 % mit dem F II-Test an. Falsch positive Befunde hatten die Autoren in 3 % bei dem SEA- und in 2 % bei dem F II-Verfahren.

Die bei den Untersuchungen mit dem F II-SC-Test gewonnene Erkenntnis über die spezifische Reaktion des RF mit aggregiertem oder bei Adsorption strukturell verändertem insbesondere menschlichen Gamma-Globulin verwendeten EPSTEIN und Mitarb. (16,17) bei ihrem F II-Präzipitationsverfahren, mit welchem die Autoren den spezifisch präzipitierten RF auch chemischen und immunologischen Untersuchungen zugänglich machen wollten. Reaktant ist gepooltes, bei 56°C aggregiertes menschliches Gamma-Globulin (Cohn-Fraktion II) ohne Trägersubstanz. Dieses aggregierte Gamma-Globulin wird in zunehmender Verdünnung mit dem zu untersuchenden Serum bzw. dessen Euglobulinfraktion zusammengegeben und der im Falle von PCP entstehende gelatinöse Niederschlag als positiver Testausfall gewertet.

Die Gamma-Globulinmenge ist nach ihrem N-Gehalt nach Kjeldahl zu bestimmen. Mit diesem Verfahren erhielten EPSTEIN und Mitarb.(16) bei 21 PCP-Seren bzw. deren Euglobulinfraktion in 18 Fällen positive Ergebnisse; falsch positive Werte traten nicht auf. Im Prinzip ähnlich nur mit Messung der Lichtbrechung zur Bestimmung der Gamma-Globulinkonzentration sind die Methoden von COHEN et al.(10) und von MÜLLER und HAFSTEIN (44).

Erythrozyten als Trägersubstanz und Indikator in den Hämagglutinationsreaktionen sind als biologisches Substrat mit komplexer organischer Struktur Veränderungen in Form, Größe und Reaktionsfähigkeit unterworfen. Daraus resultieren Schwierigkeiten in der Durchführung und Interpretation der Versuche. Zellen desselben Tieres ergaben mit Rheumaserum mehrmals hintereinander getestet keine konstanten Titer (73). Das in diesen Fällen angewandte Tannieren der Erythrozyten ist mühsam und beeinflußt die organische Struktur nicht. Auf Grund dieser Schwierigkeiten versuchte man, die Erythrozyten als Vehikel für Gamma-Globulin und als Reaktionsindikator durch biologisch inerte Teilchen zu ersetzen. Man probierte Polystyren-Latex, Bentonit, Kollodium, Tusche, Quarz und andere Materialien. Polystyren-Latex erwies sich im Laufe der Zeit als am besten geeignet, denn die Teilchen haben alle ungefähr gleiche Größe (um 0,81 Mikron) und lassen sich gut mit Gamma-Globulin beladen, "sensibilisieren". Die an Latex adsorbierte Gamma-Globulinmenge ist zwar mit 2,6-12,4 mg/Gamma-Globulin/mg Latex nicht sehr groß, die Bindung ist jedoch ziemlich fest, so daß das an Latex angelagerte Protein chemisch nicht mehr ohne weiteres austauschbar ist. Zur Sensibilisierung und somit als Reaktant kann sowohl elektrophoretisch gewonnenes, also unaggregiertes Gamma-Globulin, wie auch handelsübliche Cohn-Fraktion II benutzt werden (4). Das unaggregierte Gamma-Globulin erfährt, wie man annimmt, bei der Anlagerung an Latex eine subtile Zustandsänderung und wird damit für

den RF reaktionsfähig. Bei Temperaturen von 60-65°C dissoziiert der Gamma-Globulin-Latexkomplex (35). MATHIES benutzte diese Temperaturen zur Gewinnung des RF (35).

Nach eingehenden Untersuchungen mit Latex entwickelten SINGER und PLOTZ 1956 den Latex-Fixationstest (LFT) (58). Bei dieser Methode wird von dem zu untersuchenden Serum eine Verdünnungsreihe von 1:20 bis 1:5120 hergestellt. Zu jeder dieser Serumproben wird eine gleiche Menge Gamma-Globulin-Latexlösung gegeben. Nach zwei Stunden Aufbewahren bei 56°C und Zentrifugieren wird die auftretende Agglutination abgelesen. Daneben werden Kontrollen mit gepufferter Salzlösung mitgeführt. Agglutination bei einer Serumverdünnung von 1:20 oder höher wird als positiver Test gewertet.
SINGER und PLOTZ (58) wiesen auf den Wert standardisierter Testbedingungen hin, insbesondere um reproduzierbare Titer zu erhalten. Der pH-Bereich soll möglichst nicht zwischen 5,5 und 8,0 liegen, um den isoelektrischen Punkt und die damit verbundene Spontanagglutination des Gamma-Globulins zu vermeiden. Die Autoren empfahlen Glykokoll-Kochsalzpuffer mit einem pH-Wert von 8,2 als optimal. Die Empfindlichkeit des Verfahrens wird durch 48-stündige Kühlschrankaufbewahrung erhöht. Danach gilt schon eine Agglutination bei einer Verdünnung höher als 160 als positiv. Die Autoren testeten 150 Rheumaseren. Von diesen waren mit dem LFT 71,3 % positiv und der Rest negativ, mit dem Schaferythrozyten-Agglutinationstest erhielten die Untersucher dagegen nur 46,6 % positive, 21,3 % zweifelhafte und 32 % negative Ergebnisse, während sie mit dem Heller-Test eine Trefferquote von 64 % bei 10 % zweifelhaften und 26 % negativen Resultaten erzielten. Falsch positive Befunde hatten die Untersucher in 2,6 % mit dem LFT und in 2,9 % mit den anderen Methoden. Der Heller-Test war gegenüber dem Latextest jedesmal mit einem höheren Titer positiv (49).

Andere Untersucher erreichten mit dem Latex-Fixationstest folgende Trefferquoten: MÜLLER und SCHUPP (45) sowie

ROTHERMICH und PHILIPS (52) 84 %, RHEINS et al. 85,8 %, zit. bei KÖHLER (31), ähnlich BARTA et al. mit 82 %, zit. bei KÖHLER (31). MIKKELSEN et al. erzielten bei Patienten mit Noduli eine Trefferquote von 9o % und bei solchen ohne Noduli 81 %, zit. bei KÖHLER (31). STEFFEN et al., zit. bei KÖHLER (31), LANE und DECKER, zit. bei KÖHLER (31), HALL et al., zit. bei KÖHLER (31) und THOMAS et al., zit. bei KÖHLER (31) erhielten in 70 % bis 72,4 % positive Ergebnisse, während KEITEL und HARTUNG, zit. bei KÖHLER (31) mit einer Trefferquote von 77,3 % etwas höher liegen sollen. SCHIRMER (54) berichtet von 75 bis 85 Prozent positiven Befunden mit der Latexmethode, wobei die positiven Kontrollfälle unter 1 Prozent liegen; während der Test bei PIKE et al. (48), KLEIN (18) und BARTFELD (2) nur in 69,7, in 63 und in 68,2 Prozent der Fälle positiv ausfiel, wobei PIKE et al. 5,5 % zweifelhafte Ergebnisse hatten (48). HALL et al. (22) führten den LFT einmal mit Rheumaserum und zum anderen mit dessen Euglobulinfraktion durch. Sie gewannen diese Fraktion durch Serumdialyse gegen Zitratpuffer bei pH 5,8 und 4^{0}C über 48 Stunden. Die Trefferquote betrug im ersten Falle 72 % und mit der Euglobulinfraktion 81,9 %. Auch GROSS (21) berichtet von 80-90 % positiven Resultaten bei Verwendung der Euglobulinfraktion im LFT. SCHUBART et al. (55) benutzten bei ihren Untersuchungen über den hitzelabilen Inhibitor der Agglutinationsreaktionen im Zusammenhang mit dem RF einmal inaktiviertes und einmal natives Patientenserum im LFT nach SINGER und PLOTZ. Sie erhielten im ersten Falle 66,6 % und unter Verwendung von Nativserum 52,5 % positive Ergebnisse.

Eine weitere Modifikation des LFT nach SINGER und PLOTZ ist die von diesen Autoren entwickelte 1-Röhrchen-Methode mit patienteneigenem Gamma-Globulin und Ammoniumsulfat-Fraktionierung des Serums, wobei die Trefferquote 90 % bei 2 Prozent falsch positiven Befunden betrug (59). Hier wäre auch der Objektträger-Latex-Fixationstest von SINGER und PLOTZ (60) zu erwähnen. Auf einem Objektträger wird eine 1 %-ige Eosinlösung mit Fingerbeerenblut oder Serum des Patienten gemischt, und auf einem anderem

Objektträger geschieht dasselbe mit 2 %-iger Eosinlösung. Nach Zugabe von Latexlösung und erneutem Mischen wird die bei PCP auftretende Agglutination abgelesen. Bei Verwendung 1 %-iger Eosinlösung erhielten die Untersucher 91,6 % und bei 2 %-iger Lösung 86,7 % positive Ergebnisse. Unter den Kontrollen waren 2 bzw. 1 Prozent positiv (60).

Bei der RF-Bestimmung mit dem Latex-Tropfentest (LTT) oder sogenannten RA-Test (Rheumatoid-Arthritis-Test) wird ebenfalls auf einem Objektträger ein Tropfen des mit Glykokoll-NaCl-Puffer pH 8,2 verdünnten zu untersuchenden Serums mit einem Tropfen der handelsüblichen Latexsuspension gemischt. Bei Anwesenheit des RF ist eine Agglutination der Latexteilchen zu beobachten. Die Reagenzien werden von den Hyland Laboratories, Los Angeles, den Behringwerken, Marburg und Dr. Molter, Heidelberg hergestellt, wobei die Latexpartikel schon mit Gamma-Globulin beladen sind.
HEUBERGER erhielt mit dem LTT bei 76 PCP-Fällen in 84,6 % ein positives Ergebnis (28), EGGHART und WIEDERMANN (15) bei 32 von 41 Patienten mit PCP und LANE und DECKER (34) in 89 %. FEUERSTEIN (19) erzielte mit der Methode in ca. 80 % der Fälle einen positiven RF-Nachweis bei 3 % falsch positiven Befunden.
MATHIES und FÜHRNROHR verglichen in ihren Versuchen mit dem LTT die Trefferquote bei Verwendung von Vollserum, Euglobulin- und Kältepräzipitaten (37). Die Autoren bewerteten nur eine eindeutige Agglutination bei einer Verdünnung von mindestens 1:20 als positiv. Bei 74,6 % aller PCP-Patienten mit destruktiven Veränderungen konnte der RF nachgewiesen werden. Arthritisch-arthrotische Mischformen ergaben in 31,2 % ein positives Testergebnis, Arthrosis deformans und interne Erkrankungen ohne die der Leber in 5,9 bzw. 5,8 %, während Versuche mit Seren einer gesunden Kontrollgruppe nur 2 % positive Testergebnisse lieferten. Bei 21 PCP-Patienten vom destruktiven Typ konnte mit Vollserum in 76,2 %, mit der Euglobulinfraktion nach ZIFF in 57,1 % und mit dem Kältepräzipitat nach SVARTZ und SCHLOSSMANN in 52,4 % ein positiver RF-Nachweis erzielt werden.

Die Reaktion des RF mit Gamma-Globulin kann in sämtlichen oben angeführten Agglutinations- und Präzipitationsverfahren durch gewisse Serumfaktoren, sogenannte Inhibitoren, gehemmt werden. HELLER und Mitarb. (26) konnten nachweisen, daß Gamma-Globulin (Cohn-Fraktion II) gepoolter Seren zu positiv reagierenden Rheumaseren hinzugefügt, die SEA-Reaktion vollständig inhibierte. ZIFF und Mitarb. (75) machten für den großen Prozentsatz negativer Ergebnisse bei den Hämagglutinationsverfahren inhibitorisch wirksame Substanzen verantwortlich. Nach Serumdialyse gegen gelösten Phosphatpuffer fanden ZIFF und Mitarb. die inhibitorische Potenz im Falle von Rheumaserum nur im Überstand, während das Präzipitat, die sogenannte Euglobulinfraktion, keine Hemmung bewirkte. Nichtrheumatiker- bzw. Normalseren entfalteten sowohl als Vollserum wie auch aus der Euglobulinfraktion heraus eine inhibitorische Wirkung. Es sind mehrere Versuche gemacht worden, die Natur und die Lokalisation des Inhibitors zu bestimmen. Bei Versuchen mit Nativseren und solchen, die 30 Minuten lang auf 56°C erhitzt worden waren, stellten SCHUBART und Mitarb. in den Nativseren einen hitzelabilen Inhibitor fest (55,56). Dieser thermolabile Inhibitor konnte von den Autoren in allen Seren, die inaktiviert im LFT positiv waren, nachgewiesen werden, ebenso in allen Normalseren. SCHUBART (56) setzt den thermolabilen Inhibitor in Beziehung zu Komplement, speziell zu dessen Mittelstück, welches die Komponenten C'_1, C'_3 und etwas C'_4 enthält. Der Autor wies nach, daß der thermolabile Inhibitor wie das Mittelstück an Antigen-Antikörper-Komplexe adsorbiert werden kann, und daß damit die inhibitorische Potenz verloren geht. Erhitzen auf 56°C für 12-15 Minuten bewirkt wie bei Komplement einen Aktivitätsverlust. Im Mittelstück ist die Komponente C'_1 die thermolabile. Allerdings konnte SCHUBART nach der Hitzeinaktivierung immer noch eine gewisse Restinhibition beobachten, welche er auf einen zweiten, hitzestabilen Inhibitor zurückführt (56).

RANTZ und Mitarb. (50) sowie DEICHER (11) konnten den Inhibitor durch elektrophoretische Untersuchungen lokalisieren.

RANTZ und Mitarb. (50) fanden im Alpha-Beta-Bereich, DEICHER (11) mittels Zonenelektrophorese im $Alpha_2$- und $Gamma_1$-Bereich deutliche inhibitorische Aktivität in den Agglutinations-Hemmungsverfahren (s.u.). Der $Alpha_2$-Inhibitor konnte von DEICHER (11) nach erfolgter Dialyse gegen Phosphatpuffer hauptsächlich im Überstand und nur gering in der Euglobulinfraktion des Serums nachgewiesen werden. Nach 30-minütigem Erhitzen auf 56°C war die Aktivität des $Alpha_2$-Inhibitors vollständig aufgehoben (11). Es handelte sich hier wahrscheinlich um den von SCHUBART beschriebenen hitzelabilen Inhibitor. Nach DEICHER (11) war der im $Gamma_1$-Bereich lokalisierte Inhibitor relativ inkonstant im Gegensatz zu jenem in der $Alpha_2$-Fraktion. Der Autor nimmt im Falle dieses unregelmäßig auftretenden Inhibitors an, daß es sich um aggregiertes leichtes Gamma-Globulin handelt.

EPSTEIN (16) und CHRISTIAN (9) berichten über die inhibitorische Aktivität unaggregierten 7 S-Gamma-Globulins auf durch Rheumaseren ausgelöste Agglutination, wenn sich 7 S-Gamma-Globulin dabei im Überschuß befindet. Erheblicher Überschuß soll schon gebildete Präzipitate wieder lösen können (9).

CHRISTIAN (9) fraktionierte Cohn-Fraktion II, indem er zu 100 ccm 2 %-igem, in Puffer von pH 8,0 gelöstem Gamma-Globulin wiederholt 20 ccm einer 2,18 molaren Natriumsulfatlösung hinzufügte. Bei diesem Vorgehen präzipitierten in den meisten Fällen 6 Fraktionen, von denen die beiden ersten Material mit S_{20}-Werten von 30-40 enthielten. Dieses Material erwies sich im F II- und Präzipitintest als ausgezeichnet zur Sensibilisierung geeignet, als guter Reaktant und kräftiger Inhibitor der Agglutination bzw. Präzipitation. Bei diesen schweren Fraktionen handelte es sich um aggregiertes Gamma-Globulin; während die 4 übrigen Fraktionen überwiegend aus unaggregiertem 7 S-Gamma-Globulin bestanden, welches im Gegensatz zu den schweren Fraktionen nicht mit dem RF reagierte, tannierte Erythrozyten nicht sensibilisierte

und in normaler Konzentration keine Inhibition auf ein positives Rheumaserum ausübte. Erhitzen der 6 Fraktionen verbesserte in jedem Fall die Reaktionsfähigkeit. Nach BERNHARD (4) kann der hitzelabile Inhibitor mit aggregiertem oder an Latex angelagertem Gamma-Globulin eine hitzestabile Bindung eingehen. MATHIES (35) fixierte den hitzelabilen Inhibitor auf diese Weise und erhitzte dann die Seren auf 56°C. Es erfolgte eine Zunahme der Inhibition um einen Betrag, den die Inhibition durch inaktiviertes Normalserum ausmachte.

Die angeführten Untersuchungen von DEICHER (11), CHRISTIAN (9) und MATHIES (35) zeigen übereinstimmend, daß es sich bei dem "hitzestabilen" Inhibitor um bei der Aufbereitung oder beim Erhitzen der Seren entstandenes aggregiertes Gamma-Globulin handelt, welches sich als Reaktant an den RF bindet. Das trifft auch für den von ZIFF und Mitarb. (75) entwickelten sogenannten Euglobulin-Inhibitions-Test zu. ZIFF und Mitarb. (75) waren von der Überlegung ausgegangen, daß der Inhibitor in der Euglobulinfraktion von Rheumaseren mit dem anwesenden RF reagiert und damit je nach dessen Konzentration nur eine geringe oder auch keine Inhibition auf ein Agglutinationssystem mit einem positiven Rheumaserum ausüben kann. Die Autoren gingen bei ihrem Inhibitions-Test so vor, daß sie eine Verdünnungsreihe des Kälteglobulins der zu untersuchenden Seren oder eine solche des mit Dialyse gegen Zitratpuffer gewonnen Euglobulins herstellten, beginnend mit einer Euglobulinverdünnung von 1:14. Dann wurde die Inhibitionswirkung der einzelnen Verdünnungsstufen auf die Agglutination sensibilisierter Schaferythrozyten durch ein bekannt positives Rheumaserum geprüft. Als Inhibitionstiter bezeichneten ZIFF und Mitarb. diejenige Verdünnung des Globulins bzw. Euglobulins, welche das Auftreten einer Agglutination eben noch zu verhindern vermag. Die Inhibition wird als positiv gewertet, wenn sie bei einer Euglobulinverdünnung von

1:14 wirksam ist. Die Untersucher wiesen nach, daß Rheumaseren unabhängig vom Grad der PCP-Erkrankung in dem Euglobulin-Hemmungs-Test keine inhibitorische Aktivität entfalten, während 96 % der getesteten Nicht-rheumatikerseren die jeweilige Agglutinationsreaktion inhibierten (75). Unter letzteren Seren waren solche von Gesunden, Patienten mit Gicht, Lupus eryth. diss., Spondylitis, Psoriasis arthropathica, akutem Gelenk-rheumatismus, rheumatischen Herzkrankheiten, degenerativen Gelenkerkrankungen, Myositis, Dermatomyositis, Sklerodermie, ungeklärter Monarthritis, M. Bechterew, Gelenktuberkulose und Patienten mit chirurgischen Erkrankungen. ZIFF und Mitarb. (75) empfahlen, den negativen Ausfall eines Agglutinations-Hemmversuches mit der Euglobulinfraktion eines Rheumaserums als positiven Testbefund zu werten, da es sich hierbei um ein Charakteristikum der PCP-Seren zu handeln scheint. Mit der ZIFF'schen Methode kann der RF noch in einer Konzentration nachgewiesen werden, welche selbst noch keine Agglutination bewirkt aber schon die inhibitorische Potenz in der Euglobulinfraktion aufhebt. Die nachstehend aufgeführten Inhibitionsmethoden arbeiten im Grunde alle nach dem ZIFF'schen Prinzip und sind mehr oder weniger modifiziert.

SCHIERZ (53) verwendete bei seinem Inhibitionstest ein durch Ammoniumsulfat gefälltes Präzipitat des inaktivierten Serums in einem Hämagglutinationsverfahren. Der Autor wählte eine höhere Konzentration des Referenzserums als ZIFF und erreichte damit, daß der Test etwas weniger empfindlich dafür aber spezifischer ausfiel.
Bei vergleichenden Untersuchungen mit 58 Seren von Patienten mit klinisch nachweisbarer PCP erhielt SCHIERZ in 74,1 % mit dem Inhibitionstest positive Resultate, in 58,6 % mit dem Latex-Tropfentest und in 48,3 % mit dem Hämagglutinationstest. Insgesamt konnte er den RF in 52 Fällen (89,7 %) nachweisen, davon in 20,7 % mit allen Reaktionen, in 50 % mit jeweils zwei und in 19,0 %

mit nur einer positiven Reaktion (7 im Hämagglutinations-Inhibitionstest, je 2 im Hämagglutinations- und Latex-Tropfentest). 6 Seren (10,3 %) blieben negativ. Bei der Prüfung der Spezifität lag der Inhibitionstest mit weniger als 10 % falsch positiven Ergebnissen nicht über dem Durchschnitt anderer Untersuchungsmethoden.

HALL und Mitarb.(22) kombinierten einen Inhibitionstest mit dem Latex-Fixationstest nach SINGER und PLOTZ. Sie prüften die zu untersuchenden Seren im Dreistufenverfahren, zuerst das Vollserum mit dem LFT, bei negativem Ausfall desselben die Euglobulinfraktion nach ZIFF im LFT, bei wiederum negativem Ausfall die Euglobulinfraktion im Inhibitionstest. Bei letzterem wird zu drei bekannt positiven, hochtitrigen PCP-Seren (Basisseren) das zu untersuchende Serum bzw. dessen Euglobulinfraktion in einer Verdünnung von 1:5, 1:7, 1:14 gegeben. Dann wird Standard-Latex-Globulinsuspension hinzugefügt. Im allgemeinen wird die Agglutination von Normalseren in der Verdünnung von 1:5 und 1:7 inhibiert, während die Euglobulinfraktion von Rheumaseren in einer Verdünnung von 1:7 häufig auch von 1:5 nicht in der Lage ist, den Agglutinationsvorgang zu hemmen. Ausbleibende Inhibition wird als positiver Test gewertet. Bei HALL und Mitarb.(22) war in keinem Falle eine Probe in einer der ersten Stufen positiv und in den nachfolgenden negativ. Die Autoren erhielten unter Verwendung der Seren von 177 Patienten mit gesicherter PCP in 72,3 % mit dem LFT ein positives Ergebnis, mit der Euglobulinfraktion in 81,9 % und mit dem Inhibitionstest in 99,4 %.

DEICHER und Mitarb.(13) modifizierten den ZIFF'schen Inhibitionstest, indem sie zur Erhaltung des $Alpha_2$-Inhibitors Nativseren verwendeten und den Versuch in Verbindung mit dem LFT durchführten, wobei das Patientenserum von 1:4 bis 1:128 verdünnt wurde. Die Autoren bewerteten Hemmung bis zu einer Verdünnung von 1:32 als

negativ, wenn die folgenden Röhrchen noch Teilhemmung zeigen auch bis 1:16. Sind diese (ab 1:32) deutlich agglutiniert, so gilt der Test als schwach positiv, ebenso bei Teilhemmung ab 1:8, wenn spätestens bei 1:64 stärkere Agglutination einsetzt. Deutliche Agglutination bei 1:16 und darunter gilt als positiv.
DEICHER und Mitarb.(13) teilten die Rheumatiker nach den Kriterien der Am. Rheumat. Ass. ein, wobei classical und definitive arthritis unter "sichere PCP" zusammengefaßt wurden, probable arthritis = wahrscheinliche PCP. Bei 87 Fällen von sicherer PCP mit positiven Agglutinationstests erhielten die Autoren (13) mit dem Inhibitionsverfahren 95,6 % deutlich positive Ergebnisse, während der Test in je 2,2 % schwach positiv und negativ ausfiel. Bei der gleichen Gruppe, deren Seren aber im Agglutinationstest negativ waren, betrug die Trefferquote mit dem Inhibitionstest 76,9 % bei 19,3 % schwach positiven Ergebnissen. Die Seren von Patienten mit wahrscheinlicher PCP und negativem Agglutinationstest waren in 42,9 % deutlich und mit demselben Prozentsatz schwach positiv. Seren von Patienten mit sogenannter sekundär chronischer Polyarthritis, bei welcher die chronischen Gelenkaffektionen mit Fieber begonnen hatten, und deren Schübe von einem AST-Anstieg begleitet wurden, waren im Inhibitionstest in keinem Falle positiv. Von 100 Normalpersonen ergab nur eines der Seren eine positive Reaktion mit dem Hemmverfahren (13).

KLEIN, zit. bei ERNST (18), führte zur Vereinfachung der HALL'schen Reaktion an Stelle des umständlichen und zeitraubenden Dialysierverfahrens zur Gewinnung der Euglobulinfraktion die Periston-Kollidon-Fällung nach WIEDERMANN und Mitarb. durch. Außerdem benutzte er nur ein Basisserum und unterzog es zur Ausschaltung eventuell interferrierender Serumbestandteile auch einer Kollidonpräzipitation, wobei gleichzeitig der RF angereichert wird. Ähnlich wie HALL untersuchte KLEIN zuerst mit dem LFT

bzw. mit dem LTT. Bei 188 gesicherten PCP-Fällen erzielte KLEIN mit dem LFT eine Trefferquote von 63 %. Von 105 im LFT negativen Seren waren dann im Inhibitionstest 61,1 % positiv, was einer Zuwachsrate von 22 % entspricht. Insgesamt kommt der Autor auf 85 % positive Ergebnisse. Er zitiert andere Untersucher wie HALL und Mitarb., die eine Zuwachsrate von 28 %, DRESNER und TROMBLY, die 34 %, VANSLYPE und Mitarb., die 39 % und TAUBNER und Mitarb., die 20 % erreichten. KLEIN's falsch positive Befunde liegen mit 20,9 % verhältnismäßig hoch, wobei die Mehrzahl auf Konto der entzündlichen und allergischen Gelenkaffektionen geht (18).

MIEHLKE und PUTTNINS (42), welche die ZIFF'sche Methode als erste in Deutschland nachgearbeitet haben, berichten von einer Trefferquote von 95 Prozent und 5 Prozent falsch positiven Ergebnissen.
MATHIES und FLADERER (36) benutzten in Verbindung mit dem Latex-Tropfentest Vollserum in dem Inhibitionstest zur RF-Bestimmung. Sie bewerteten den Inhibitionstest als positiv im Sinne einer PCP, wenn durch eine Verdünnung des zu untersuchenden Serums von 1:8 und darunter die Agglutination in einem System mit bekannt positivem Rheumaserum (Referenzserum) nicht inhibiert wurde. Bei sicherer und wahrscheinlicher PCP (nach den Kriterien der Am. Rheum. Ass.) betrug die Trefferquote mit dem LTT 66,7 %. Mit dem Inhibitionstest in Verbindung mit dem Latextest konnte sie auf 87,5 % und unter Einbeziehung der schwach positiven Ergebnisse auf 91,7 % erhöht werden. Bei fraglicher PCP verbesserte der Inhibitionstest die Trefferquote des LTT von 27,8 auf 55,6 Prozent (36).

Die angeführten Untersuchungsergebnisse lassen die Überlegenheit der Inhibitionsmethode gegenüber den anderen Untersuchungen bei einer Erfassung auch geringer RF-Mengen erkennen. MATHIES und FLADERER (36) wiesen auf den Wert des Inhibitionstests besonders bei der fraglichen PCP hin.

Alle angeführten Untersucher erhielten in 85 bis 99 Prozent der Fälle ein positives Ergebnis, eine Übereinstimmung, die in dieser Weise mit den anderen Nachweismethoden nicht erreicht wurde. Die falsch positiven Ergebnisse bleiben dabei unter 10 % (13, 36, 42, 53).
Wegen des technischen Aufwandes ist der Inhibitionstest allerdings nur größeren Laboratorien vorbehalten. Für die anderen Untersuchungsstellen und auch für die Praxis haben sich die Latexverfahren zum Nachweis des RF am besten bewährt. Außer ihrer einfachen und bequemen Anwendung und der immer eindeutigen Interpretation der Ergebnisse haben die Latex-Tests eine im Vergleich zu den übrigen Agglutinationsreaktionen mindestens gleich hohe, meistens aber bessere und speziell gegenüber den Hämagglutinationsreaktionen weniger unterschiedliche Trefferquote bei ausreichender Spezifität. Wenn diese Tatsache auch schon aus den oben angeführten Untersuchungsmethoden und ihren Ergebnissen hervorgeht, so wird sie doch am eindruckvollsten durch verschiedene Untersuchungsmethoden bei Verwendung desselben Serums belegt.

MIEHLKE, KRUPPA und SCHIMANSKI (41) nahmen bei 2097 Seren Untersuchungen mit dem HELLER'schen SEA-Test, dem Hämagglutinationstest mit menschlichem Nullblut (HEA-Test), dem Latex-Fixationstest nach SINGER und PLOTZ (LFT) und dem Latex-Tropfentest (RA-Test) nach RHEINS und Mc.COY vor. 641 Seren waren von klinisch sicheren PCP-Fällen, 144 der Kontrollen enthielten M.Bechterew, akute und subakute Polyarthritis, M.Still, Gicht, Erythema nodosum, Lupus erythematodes, Periarteriitis nodosa, Sklerodermie, Dermatomyositis, Fibrositis, Arthrosis und Spondylosis. Bei den PCP-Seren betrug die Trefferquote mit dem SEA-Test 63 %, mit dem HEA-Test 69,5 %, mit dem LFT 77 % und mit dem RA-Test 86,4 %. In der gleichen Reihenfolge der Untersuchungen fielen bei M.Bechterew 58,4 %, 41,2 %,32,2 % und 33,2 % der Seren positiv aus. Während bei der akuten

und subakuten Polyarthritis der LFT immer negativ war, erhielten die Untersucher mit dem SEA-Test in 40 %, mit dem HEA-Test in 31,5 % und mit dem RA-Test in 15,8 % positive Reaktionen. Auch bei der Fibrositis fiel der LFT am wenigsten oft positiv aus, ebenso bei Arthrosis und Spondylosis. Dagegen sind SEA- und RA-Test mit 28,8 % und 41 % bzw. 37,6 % und 35,6 % am meisten unspezifisch. Die Autoren erhielten zwar mit dem RA-Test die höchste Trefferquote, sie hatten aber mit diesem Test auch die meisten falsch positiven Ergebnisse; diese betrugen mit denen des rheumatischen Formenkreises ohne PCP 31,8 %. Die günstigsten Resultate hatte der LFT mit einer RF-Erfassungsquote von 77 Prozent bei niedrigstem Prozentsatz falsch positiver Reaktionen.

MÜLLER (43) untersuchte 977 PCP-Seren mit dem Waaler-Rose-Test, dem Latex-Fixationstest (LFT), dem Latex-Tropfentest (LTT), der Grenzschichtreaktion und der Streptokokken-Agglutination. Der Autor erhielt mit dem Waaler-Rose-Test in 49,9 % eine positive Reaktion, mit dem LFT in 54,8 %, mit dem LTT in 61,8 %, mit der Grenzschichtreaktion in 57,0 % und mit der Streptokokken-Agglutination in 60,0 %. Falsch positive Ergebnisse bei 188 Normalseren traten auch hier am häufigsten mit dem LTT auf und zwar in einem Prozentsatz von 11,3, während der Waaler-Rose-Test und der LFT mit 4,5 und 7,1 Prozent die wenigsten Fehlbestimmungen aufwiesen. Nach MÜLLER (43) treten bei Sensibilisierung mit tierischem Gamma-Globulin neben falsch positiven auch eine erhebliche Anzahl falsch negativer Reaktionen auf, was der Autor darauf zurückführt, daß der RF, besonders wenn er in schwacher Konzentration vorhanden ist, nicht mit diesem Gamma-Globulin reagiert.

Schließlich seien hier noch einmal die vergleichenden Untersuchungen von PLOTZ und SINGER (49) bei 150 PCP-Patienten erwähnt. Davon waren 71,3 % der Seren mit dem

LFT positiv, 46,6 % mit dem Schaferythrozyten-Agglutinationstest und 64 % mit dem Heller-Test. In den letzten beiden Tests traten 21,3 bzw. 10 Prozent zweifelhafte Reaktionen auf. Mit einer Fehlbestimmung von 2,6 % erwies sich der LFT als der am meisten spezifische Test zum Nachweis des RF.

MÜLLER (43) gibt eine Zusammenstellung nach Literaturangaben über den Ausfall verschiedener Untersuchungsmethoden bei der primär chronischen Polyarthritis. Danach sind von 1040 PCP-Fällen 49,9 % mit dem Waaler-Rose-Test positiv und von 9265 PCP-Fällen 67,4 % mit modifizierter Hämagglutinationsreaktion. Mit dem F II-Test wird bei 512 PCP-Fällen eine Trefferquote von 72,3 % und mit dem Latex-Fixationstest bei 5095 PCP-Fällen eine Trefferquote von 77,1 % erzielt.

Fragestellung

Aus den angegebenen Modifikationen der Methoden zum Nachweis des Rheumafaktors geht das ständige Bemühen hervor, die Trefferquote zu erhöhen, ohne daß dabei auch die Fehlerquote hinsichtlich falsch positiver Ergebnisse eine Erhöhung aufweist.
MATHIES und HELMING (38) haben in jüngster Zeit eine Methodik des Latex-Fixationstests ausgearbeitet, bei der nicht die sichtbare Agglutination der Latexpartikel sondern die optische Dichte (OD) des Überstandes nach Abzentrifugieren des Agglutinates bestimmt wird. Je stärker dabei die Agglutination ist, desto geringer ist die optische Dichte im Überstand. Der reziproke Wert der prozentualen OD gegenüber dem Kontrollwert ist dann der Prozentsatz agglutinierter Latexpartikel, der als Meßwert angegeben wird.

Die Autoren haben die Untersuchungen in einer Verdünnung des zu untersuchenden Rheumatikerserums von 1:20 bis 1:20 480 durchgeführt. In der klinischen Routineuntersuchung genügt die Bestimmung bei einer Verdünnung von 1:20. Da oberhalb von einer Verdünnung von 1:320 die Latexpartikel nicht gleichmäßig suspendiert bleiben, war ein geringer Albuminzusatz im Agglutinationssystem notwendig. Die Autoren hatten festgestellt, daß die Abnahme der Suspensionsfähigkeit der Latexpartikel auf der geringer werdenden Konzentration der Serumproteine beruht. Ein Zusatz von Vollserum gesunder Versuchspersonen war nicht möglich, da sich in den Gamma-Globulinen Inhibitoren befinden, die die Reaktion von RF mit Gamma-Globulin verhindern. Der erwähnte Albuminzusatz ist deshalb auch bei Kontrollröhrchen ohne Rheumatikerserum (anteilmäßig durch Pufferlösung ersetzt) notwendig.

Mit der angegebenen Methodik, die unten eingehend beschrieben wird, konnten die Autoren den RF in den Seren von Patienten mit sicherer und klassischer chronischer

Polyarthritis, die im Latex-Tropfentest negativ waren, noch in 45 % dieser Fälle nachweisen. Unter Einbeziehung der fraglich positiven Ergebnisse erhöhte sich der Prozentsatz auf 50 %. Bei klinisch fraglicher und wahrscheinlicher chronischer Polyarthritis mit negativem Latex-Tropfentest wurde in 40 % der Fälle der Rheumafaktor durch die angegebene Methode noch erfaßt. Diese Untersuchungen wurden vorerst an insgesamt 25 Fällen durchgeführt. Bei 15 weiteren Fällen mit anderen Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis war die Reaktion in keinem Falle positiv. Auch bei 50 Seren gesunder Blutspender wurde kein positiver Ausfall gefunden. 23 Seren von chronischer Polyarthritis mit positivem Latex-Tropfentest waren auch mit der Bestimmung der OD des Überstandes erwartungsgemäß positiv. Aus den erwähnten Untersuchungen mit Seren gesunder Blutspender wurden die Normwerte festgelegt. Der niedrigste Wert lag bei 13,8 % agglutinierter Latexpartikel. Werte von über 20 % wurden als pathologisch bezeichnet, während Werte zwischen 13,8 % und 20 % als fraglich positiv angesehen wurden.
Nach diesen ermutigenden Ergebnissen sollte die Treffsicherheit an einem größeren Krankengut überprüft werden.

Eigene Untersuchungen

Prinzip der Methodik

Durch Zugabe von Rheumatikerserum zu Pufferlösung und einer Suspension von mit Gamma-Globulin (Cohn-Fraktion II) beladenen Latexpartikeln kommt es im positiven Fall zur Agglutination, die bei schwachen Agglutinationsgraden auch nach Zentrifugation makroskopisch nicht mehr erfassbar ist. Es wird deshalb nach dem Zentrifugieren die OD des Überstandes fotometrisch gegen Leerwert (Pufferlösung) gemessen und mit der OD der Latexsuspension ohne Rheumatikerserum verglichen. Die Berechnung erfolgt dann in Prozenten der OD der vollsuspendierten Latexpartikel. Je stärker die Agglutination ist, desto geringer ist die OD im Überstand. Der reziproke Wert der prozentualen OD ist dann der Prozentsatz agglutinierter Latexpartikel, der als Meßwert angegeben wird.

Untersuchungsmaterial, Reagenzien und apparative Ausrüstung:

a) Zu untersuchende Seren, insgesamt 454
b) Suspension mit Gamma-Globulin (Cohn-Fraktion II) beladener Latexpartikel (handelsübliches Reagenz der Behringwerke Marburg)
c) Positives Standard-Serum zum LTT, Verdünnung 1:20 (handelsübliches Reagenz der Behringwerke Marburg)
d) Negatives Standard-Serum zum LTT, Verdünnung 1:20 (handelsübliches Reagenz der Behringwerke Marburg)
e) Glykokoll-NaCl-Puffer pH 8,2 (handelsübliches Reagenz der Behringwerke Marburg)
f) Human-Albumin 20 %-ig (handelsübliches Reagenz der Behringwerke Marburg)
g) Eppendorf-Fotometer, Filter 578 nm, Schichtdicke 10 mm.

Methodik

a) Es wurde in Zentrifugenröhrchen mit Pufferlösung (e) eine Verdünnung des zu untersuchenden Serums (a) von 1:20 mit einer Gesamtflüssigkeitsmenge von 2 ml angesetzt. Außerdem wurde ein Kontrollröhrchen mit

2 ml Puffer (e) mitgeführt. Zu dieser Ausgangsverdünnung von 1:20 wurden dann 2 ml einer mit Puffer (e) auf 1:50 weiterverdünnten Latex-Suspension (b) gegeben. Zu dem Kontrollröhrchen wurde die gleiche Menge mit Puffer auf 1:50 verdünnter Latexsuspension gegeben, die jedoch 0,04 % Human-Albumin (0,2 ml einer 20-%igen Albuminlösung pro 100 ml der verdünnten Latexsuspension) enthielt. Anschließend erfolgte Inkubation der Röhrchen für 45 Min. bei 56°C. Dann wurden die Röhrchen 5 Min. bei 2400 U/Min. (950 x G) und nach Wiederaufschütteln nochmals 10 Min. bei 1200 U/Min. (475 x G) zentrifugiert. Schließlich wurde mit dem Eppendorf-Fotometer bei einer Wellenlänge von 578 nm mit Schichtdicke 10 mm (f) die Trübungsmessung gegen Pufferlösung (e) als Leerwert auf der linearen Skala vorgenommen. Die Berechnung erfolgte in Prozenten des Kontrollwertes (verdünnte Latexsuspension ohne Serum) sowie schließlich als reziproker prozentualer Wert als Ausdruck des zu beurteilenden Agglutinationsgrades.

b) Latex-Tropfentest

Ein Teil des zu untersuchenden Serums (a) wird mit 19 Teilen Glykokoll-NaCl-Puffer pH 8,2 (e) verdünnt. Ein Tropfen dieser Verdünnung 1:20 wurde neben je einen Tropfen positiver und negativer Standard-Serumverdünnung 1:20 (c, d) auf einen Objektträger aufgetropft. Zu jedem Tropfen Serumverdünnung wurde ein Tropfen Latexsuspension (b) hinzugesetzt und gut durchgemischt. Nach 1-3 Minuten erfolgte die Ablesung. In dieser Zeit kommt es im positiven Fall, d.h. bei Anwesenheit von RF zur Agglutination der Latexteilchen. Nach 3 Minuten können noch unspezifische Reaktionen hinzutreten.

Ergebnisse und Diskussion

Es wurden 454 Seren mit dem Latex-Tropfentest (LTT) und mit der Methode mit fotometrischer Bestimmung des Agglutinationsgrades im Latex-Fixationstest (LFT) untersucht. Die Seren setzten sich zusammen aus 38 Seren von Patienten mit fraglicher primär chronischer Polyarthritis, 123 Seren von solchen mit sicherer primär chronischer Polyarthritis, 8 Seren von Spondylitis ankylopoetica und 2 von M. Sjögren, 5 Seren einer Gruppe mit M. Reiter, palindromem Rheumatismus und Hydrops articulorum intermittens, 13 Seren von Patienten mit akuter und subakuter Polyarthritis, 5 Seren von symptomatischer Arthritis und 3 Arthritis psoriatica-Seren, 4 Seren einer Gruppe mit Lupus erythematodes disseminatus, Dermatomyositis und Sklerodermie, je ein Coxarthritis- und M. Boeck-Serum, 40 Seren von Patienten mit Arthrosis deformans, 35 von solchen mit degenerativem oder statischem WS-Syndrom, 1 Harnsäuregicht-Serum, 5 Seren einer Gruppe mit traumatischen Beschwerden, Gelenktuberculose und Knochentumoren, 1 Osteoporose-Serum, 3 Seren von rheumatischer Iritis und Facialisparese, 2 von Patienten mit diabetischer Arthro- und Neuropathie, 21 Seren von Patienten mit unklaren rheumatischen Beschwerden, 77 Seren von Hepatitis- und Lebercirrhose-Fällen und 56 Seren gesunder Personen.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen aufgeführt. Danach konnte der RF mit den beiden Bestimmungsmethoden bei 71 der 161 PCP-Seren, entsprechend 44,1 %, nachgewiesen werden, und zwar in 10,5 % der Fälle mit fraglicher PCP und in 54,5 % der Fälle mit sicherer. Das entspricht der Gesamtzahl positiver LTT-Reaktionen, bei welchen ja immer mit einem positiven Ausfall der OD-Bestimmung zu rechnen ist.
Bei 19 Seren, das sind 11,8 % der Gesamtzahl der PCP-Fälle, die im LTT negativ waren, war der RF mit der Methode der OD-Bestimmung eindeutig nachzuweisen. Es waren 5 Seren (13,2 %) von fraglicher PCP und 14 Seren (11,4 %)

von sicherer PCP. Mit der Methode der OD-Bestimmung konnte auch bei den sieben im LTT schwach positiv reagierenden Seren der RF einwandfrei erfaßt werden, ein hinsichtlich der Interpretation schwach positiver LTT-Reaktionen aufschlußreiches Ergebnis. 26 PCP-Seren, die mit dem LTT untersucht, negativ oder nur schwach positiv reagierten, waren also mit der fotometrischen Bestimmung des Agglutinationsgrades im LFT eindeutig positiv. Das entspricht 28,9 % aller im LTT negativen bzw. schwach positiven Seren von sicherer und fraglicher PCP. Bezogen auf die Gesamtzahl von 161 untersuchter Seren wurde mit der Methode der OD-Messung zu der Trefferquote des LTT eine Zuwachsrate von 16,2 % erhalten. Insgesamt konnte der RF mit der OD-Bestimmung bei 97 PCP-Seren entsprechend 60,2 % der Gesamtzahl nachgewiesen werden. 10 Seren, 6 von fraglicher und 4 von sicherer PCP, die im LTT negativ reagierten, bewirkten, wie sich mit der OD-Messung feststellen ließ, eine Latex-Agglutination von nur 13,8 % - 20 % der Partikel. Nach MATHIES und HELMING (38) sind solche Reaktionen als fraglich positiv zu bewerten. Bei Einbeziehung dieser Ergebnisse erhöhte sich die Trefferquote auf 66,5 % und die Zuwachsrate auf 22,4 % der Gesamtzahl.

Unter den Seren der anderen Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises außer PCP fielen je eines von M. Sjögren, Sklerodermie, Harnsäuregicht und von den Wirbelsäulen-Syndromen auf, die sowohl im LTT als auch bei der OD-Messung positiv ausfielen. Ein anderes WS-Syndrom-Serum reagierte im LTT negativ bei der OD-Bestimmung aber positiv. 2 Seren von den WS-Syndromen und 1 Serum von Arthrosis deformans waren zweifelhaft.
Der bei Hepatitis und Lebercirrhose auftretende RF-ähnliche Serumfaktor wurde mit der empfindlichen Methode der OD-Bestimmung erwartungsgemäß in einem relativ hohen Prozentsatz erfaßt; dieser belief sich auf 27,3 % aller Hepatitis- und Lebercirrhosefälle bzw. 35,1 % bei Einbeziehung der fraglich positiven Reaktionen.
Alle 56 Seren der gesunden Personen waren mit beiden Untersuchungsmethoden negativ.

Bei den 239 Seren von Erkrankungen außer PCP und ohne die Seren der gesunden Kontrollgruppe wurden insgesamt in 10,9 % positive Reaktionen mit der Methode der OD-Messung zur Bestimmung des Latex-Agglutinationsgrades erhalten. Da die differentialdiagnostische Abgrenzung der Hepatitis und der Lebercirrhose von der PCP keine Schwierigkeiten bereitet, konnten die im Zusammenhang mit diesen Leiden auftretenden positiven Reaktionen bei der OD-Messung unberücksichtigt bleiben. Damit verringerte sich die Fehlerquote auf 3,1 %. Von dieser Fehlerquote könnten noch die klinisch, serologisch und z.T. auch histologisch erfaßbaren Kollagenkrankheiten abgezogen werden, sodaß schließlich ein Prozentsatz von 2,5 % falsch positiver Resultate verbleibt. Die Hälfte dieser Fehlbestimmungen wurde mit den WS-Syndrom-Seren erhalten, was die Überlegung zuläßt, ob es sich vielleicht in dem einen oder anderen Fall um eine echte PCP mit Krankheitsmanifestation an den Wirbelgelenken handelte. Die Fehlerquote würde damit noch niederer.

Bei den Untersuchungen mit OD-Messung zur Bestimmung des Agglutinationsgrades im LFT konnte also der RF im Vergleich zu den mit dem LTT erhaltenen Ergebnissen in einem höheren Prozentsatz in den Seren von sicherer und fraglicher PCP nachgewiesen werden, ohne daß dabei die Fehlbestimmungen zunahmen. Verglichen mit anderen Nachweismethoden zeigte der Test sogar eine recht hohe Spezifität. Die Untersuchungen bestätigten, besonders da sie an einem größeren Krankengut durchgeführt wurden, die von MATHIES und HELMING berichteten Ergebnisse, welche die Methode inaugurierten (38).

Wegen der relativ einfachen Anwendung des Testes läßt sich die OD-Bestimmung auch in kleineren Laboratorien durchführen.

	c.P. fraglich	c.P. sicher	c.P. fraglich u. sicher	Spondylitis ankylopoetica	M. Sjögren	M. Reiter palindrom. Rheumatismus Hydrops interm.	akute u. subakute Polyarthrit.	symptomat. Arthritis	Arthritis psoriatica	Lupus erythem. Dermatomyositis Sklerodermie
LTT (+). OD +										
Fälle	2	5	7	0	0	0	0	0	0	0
% d. Gesamtzahl	5,3 %	4,1 %	4,3 %							
% d. LTT ø - (+)	5,9 %	8.9 %	7,8 %							
LTT +. OD +										
Fälle	4	67	71	0	1	0	0	0	0	1
% d. Gesamtzahl	10,5 %	54,5 %	44,1 %							
LTT ø. OD ø - (+)										
Fälle	27	37	64	8	1	5	13	5	3	3
% d. Gesamtzahl	71,1 %	30,1 %	39,8 %				100 %			
% d. LTT ø	84,4 %	72,6 %	77,1 %				100 %			
% d. LTT ø - (+)	79,4 %	66,1 %	71,1 %				100 %			
LTT ø. OD (+) - +										
Fälle	11	18	29	0	0	0	0	0	0	0
% d. Gesamtzahl	28,9 %	14,6 %	18,0 %							
% d. LTT ø	34,4 %	35,3 %	34,9 %							
% d. LTT ø - (+)	32,4 %	32,1 %	32,2 %							
LTT ø - (+). OD ø - (+)										
Fälle	27	37	64	8	1	5	13	5	3	3
% d. Gesamtzahl	71,1 %	30,1 %	39,8 %				100 %			
% d. LTT ø - (+)	79,4 %	66,1 %	71,1 %				100 %			

Coxarthritis	Löfgren Syndrom (M. Boeck)	Arthrosis deform.	WS-Syndrome deg. u. statisch	Harnsäure Gicht	traumat. Beschwerden Gelenks-Tbc Knochentumoren	Osteoporose	rheumat. Iritis u. Facialisparese	diabet. Arthro.u. Neuropathie	unklare rheumat. Beschwerden	Hepatitis und Lebercirrhose	Gesunde
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
										3,9 %	
										5,0 %	
0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	16	0
			2,9 %	9,1 %						20,8 %	
1	1	40	33	10	5	1	3	2	21	53	56
		100 %	94,3 %	90,9 %					100 %	68,8 %	100 %
		100 %	97,1 %	100,0 %					100 %	96,4 %	100 %
		100 %	97,1 %	100,0 %					100 %	88,3 %	100 %
0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	5	0
		2,5 %	8,6 %							6,5 %	
		2,5 %	8,8 %							9,7 %	
		2,5 %	8,8 %							8,3 %	
1	1	40	33	10	5	1	3	2	21	55	56
		100 %	94,3 %	90,9 %					100 %	71,4 %	100 %
		100 %	97,1 %	100,0 %					100 %	91,7 %	100 %

	c.P. fraglich	c.P. sicher	c.P. fraglich u. sicher	Spondylitis ankylopoetica	M. Sjögren	M. Reiter palindrom. Rheumatismus Hydrops interm.	akute u. subakute Polyarthr.	symptomat. Arthrit.	Arthritis psoriatica	Lupus erythem. Dermatomyositis Sklerodermie
Gesamtfallzahl	38 (100 %)	123 (100 %)	161 (100 %)	8 (100 %)	2	5	13 (100 %)	5	3	4
davon										
LTT Ø	32 (84,2 %)	51 (41,5 %)	83 (51,5 %)	8 (100 %)	1	5	13 (100 %)	5	3	3
LTT Ø - (+)	34 (89,5 %)	56 (45,5 %)	90 (55,9 %)	8 (100 %)	1	5	13 (100 %)	5	3	3
LTT (+) - +	6 (15,8 %)	72 (58,5 %)	78 (48,4 %)	0	0	0	0 (0 %)	0	0	1(Sklerod.)
LTT +	4 (10,5 %)	67 (54,5 %)	71 (44,1 %)	0	0	0	0 (0 %)	0	0	1(Sklerod.)
LTT Ø. OD Ø										
Fälle	21	33	54	8	1	5	13	5	3	3
% d. Gesamtzahl	55,3 %	26,8 %	33,5 %	100 %			100 %			
% d. LTT Ø	65,6 %	64,7 %	65,1 %				100 %			
% d. LTT Ø - (+)	61,8 %	58,9 %	60,0 %				100 %			
LTT Ø. OD (+)										
Fälle	6	4	10	0	Ø	0	0	0	0	0
% d. Gesamtzahl	15,8 %	3,3 %	6,2 %							
% d. LTT Ø	18,8 %	7,8 %	12,0 %							
% d. LTT Ø - (+)	17,6 %	7,1 %	11,1 %							
LTT Ø. OD +										
Fälle	5	14	19	0	0	0	0	0	0	0
% d. Gesamtzahl	13,2 %	11,4 %	11,8 %							
% d. LTT Ø	15,7 %	27,5 %	22,9 %							
% d. LTT Ø - (+)	14,7 %	25,0 %	21,1 %							

Coxarthritis	Sjögren syndrom M. Boeck)	Arthrosis deform.	WS-Syndrome deg. u. statisch	Harn-säure Gicht	traumat. Beschwerden Gelenks-Tbc Knochen-tumoren	Osteo-porose	rheumat. Iritis u. Facialis-parese	diabet. Arthro- u. Neuro-pathie	unklare rheumatische Beschwerden	Hepatitis und Lebercirrhose	Gesunde	Gesamt
1	1	40 (100 %)	35 (100 %)	11 (100 %)	5	1	3	2	21 (100 %)	77 (100 %)	56 (100 %)	454
1	1	40 (100 %)	34 (97,1 %)	10 (90,9 %)	5	1	3	2	21 (100 %)	55 (71,4 %)	56 (100 %)	
1	1	40 (100 %)	34 (97,1 %)	10 (90,9 %)	5	1	3	2	21 (100 %)	60 (77,9 %)	56 (100 %)	
0	0	0 (0 %)	1 (2,9 %)	1 (9,1 %)	0	0	0	0	0 (0 %)	22 (28,6 %)	0 (0 %)	
0	0	0 (0 %)	1 (2,9 %)	1 (9,1 %)	0	0	0	0	0 (0 %)	17 (22,1 %)	0 (0 %)	
1	1	39	31	10	5	1	3	2	21	50	56	
		97,5 %	88,6 %	90,9 %					100 %	65,0 %	100 %	
		97,5 %	91,2 %	100,0 %					100 %	90,9 %	100 %	
		97,5 %	91,2 %	100,0 %					100 %	83,3 %	100 %	
0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	3	0	
		2,5 %	5,7 %							3,9 %		
		2,5 %	5,9 %							5,5 %		
		2,5 %	5,9 %							5,0 %		
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	
			2,9 %							2,6 %		
			2,9 %							3,6 %		
			2,9 %							3,3 %		

	c.P. fraglich	c.P. sicher	c.P. fraglich u. sicher	Spondylitis ankylopoetica	M. Sjögren	M. Reiter palindrom. Rheumatismus Hydrops interm.	akute u. subakute Polyarthrit.	Symptomat. Arthritis	Arthritis psoriatica	Lupus erythem. Dermatomyositis Sklerodermie
LTT ∅ - (+). OD +										
Fälle	7	19	26	0	0	0	0	0	0	0
% d. Gesamtzahl	18,4 %	15,4 %	16,2 %							
% d. LTT ∅ - (+)	20,6 %	33,9 %	28,9 %							
LTT ∅ - (+). OD (+) - +										
Fälle	13	23	36	0	0	0	0	0	0	0
% d. Gesamtzahl	34,2 %	18,7 %	22,4 %							
% d. LTT ∅ - (+)	38,2 %	41,1 %	40,0 %							
LTT und/oder OD (+)										
Fälle	6	4	10	0	0	0	0	0	0	0
% d. Gesamtzahl	15,8 %	3,3 %	6,2 %							
LTT und/oder OD +										
Fälle	11	86	97	0	1	0	0	0	0	1
% d. Gesamtzahl	28,9 %	69,9 %	60,2 %							
LTT und/oder OD (+) - +										
Fälle	17	90	107	0	1	0	0	0	0	1
% d. Gesamtzahl	44,7 %	73,2 %	66,5 %							
OD ∅	21 (55,3 %)	33 (26,8 %)	54 33,5 %)	8 (100 %)	1	5	13 (100 %)	5	3	4
OD ∅ - (+)	27 (71,1 %)	37 (30,1 %)	64 (39,8 %)	8 (100 %)	1	5	13 (100 %)	5	3	3
OD (+) - +	17 (44,7 %)	90 (73,2 %)	107 (66,5 %)	0 (0 %)	1	0	0 (0 %)	0	0	1
OD +	11 (28,9 %)	86 (69,9 %)	97 (60,2 %)	0 (0 %)	1	0	0 (0 %)	0	0	1

Coxarthritis	Löfgren Syndrom (M. Boeck)	Arthrosis deform.	WS-Syndrome deg. u. statisch	Harnsäure Gicht	traumatische Beschwerden Gelenks-Tbc Knochentumoren	Osteoporose	rheumat. Iritis u. Facialisparese	diabet. Arthro-u. Neuropathie	unklare rheumatische Beschwerden	Hepatitis und Lebercirrhose	Gesunde
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	5	0
			2,9 %							6,5 %	
			2,9 %							8,3 %	
0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	8	0
		2,5 %	8,6 %							10,4 %	
		2,5 %	8,6 %							13,3 %	
0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	3	0
		2,5 %	5,7 %							3,9 %	
0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	21	0
			5,7 %	9,1 %						27,2 %	
0	0	1	4	1	0	0	0	0	0	24	0
		2,5 %	11,4 %	9,1 %						31,2 %	
1	1	39 (97,5 %)	31 (88,6 %)	10 (90,9 %)	5	1	3	2	21 (100 %)	56 (72,7 %)	56 (100 %)
1	1	40 (100 %)	33 (94,3 %)	10 (90,9 %)	5	1	3	2	21 (100 %)	53 (68,8 %)	56 (100 %)
0	0	1 (2,5 %)	4 (11,4 %)	1 (9,1 %)	0	0	0	0	0 (0 %)	27 (35,1 %)	0 (0 %)
0	0	0 (0 %)	2 (5,7 %)	1 (9,1 %)	0	0	0	0	0 (0 %)	21 (27,3 %)	0 (0 %)

Zusammenfassung

Es wurden 161 Seren von fraglicher und sicherer PCP sowie 239 Seren von anderen Erkrankungen und 56 Seren gesunder Personen mit einer Modifikation des Latex-Fixationstestes nach MATHIES und HELMING (38) untersucht, wobei der Agglutinationsgrad der Latexpartikel aus der fotometrischen Bestimmung der optischen Dichte des Überstandes berechnet wurde. Die erhaltenen Ergebnisse wurden mit denen des Latex-Tropfentestes verglichen. Mit dem Latex-Tropfentest wurde der Rheumafaktor in 44,1 % aller PCP-Seren erfaßt, bei Einbeziehung der schwach positiven Ergebnisse in 48,4 %. Dagegen betrug die Trefferquote bei der OD-Bestimmung 60,2 % bzw. bei Berücksichtigung der fraglich positiven Reaktionen 66,5 % der Gesamtzahl, was einer Zuwachsrate von 16,2 % bzw. 22,4 % entspricht.
Falsch positive Werte traten, wenn die positiven Reaktionen von Hepatitis-, Lebercirrhose- und Kollagenose-Seren unberücksichtigt blieben, in 2,5 % der Fälle auf.
Auf Grund dieser Ergebnisse und wegen der relativ leichten und einfachen Technik kann die Bestimmungsmethode auch von kleineren Laboratorien zur serologischen Rheumadiagnostik herangezogen werden.

Literaturverzeichnis

1 Antonaci,B.L. Ravaioli,P. Braconi,M. del Giovane,L. Ravenni,G. Localizazzione del fattore reumatoide nelle siero-proteine e sua composizione in aminoacidi. Reumatismo 11, 346, 1959

2 Bartfeld,H. Mahood,E. und Hartung,E.F. Evaluation of hemagglutination tests in the diagnosis of rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Diss. 17, 83, 1958

3 Behrend,T. und Cleve,H. Immuno-elektrophoretische Untersuchungen von Ultrazentrifugenpräparationen bei primär chronischer Polyarthritis. Z. Rheumaforsch. 19, 121, 1960

4 Bernhard,G.C. Cheng,W. and Talmage,D.W. The reaction of rheumatoid factor and complement with gamma globulin coated latex. J. Immunol. 88, 750, 1962

5 Bianchi,F.A. and Keech,M.K. Comparison of two slide tests in rheumatoid arthritis. J. Am. Med. Ass. 185, 318, 1963

6 Black,A. Goldin,M. Poske,R.M. and Malmed,L. Differentiation between rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus by sheep cell agglutinating test. Arthrit. Rheumat. 2, 99, 1959

7 Cecil,R.L. Nicholls,E.E. and Stainsby,W.J. Characteristics of streptococci isolated from patients with rheumatic fever and chronic infections arthritis. Amer. J. Path. 6, 619, 1930

8 Cecil,R.L. Nicholls,E.E. and Stainsby,W.J. The ethiologie of rheumatoid arthritis. Amer. J. Med. Sci. 181, 12, 1931

9 Christian,G.L. Characterization of the "reactant" (gamma-globulin-factor) in the F II precipitin reaction and the F II tanned sheep cell agglutination test. J. Exp. Med. 108, 139, 1958

10 Cohen,E. Neter,E. and Norcross,B.M. Detection of rheumatoid factor(s) by means of photoelectric measurement without hemagglutination. Amer. J. Clin. Path. 31, 507, 1959

11 Deicher,H. Mechanismus und Anwendung des Latex-Hemmungs-Testes zur Diagnostik der primär chronischen Polyarthritis. I.Mitteilung über die Natur der Seruminhibitoren. Klin. Wschr. 39, 612, 1961

12 Deicher,H. und Behrend,T. Das Gamma-Globulin "Antigen" des Latex-Fixations-Testes. Z. Rheumaforsch. 20, 119, 1961

13 Deicher,H. Kirchberg,G. Behrend,T. und Fricke,R. Mechanismus und Anwendung des Latex-Hemmungs-Testes zur Diagnostik der primär chronischen Polyarthritis. II.Mitteilung. Modifikationen der letzten Jahre. Klin. Wschr. 40, 167, 1962

14 Edelman,G.M. Kunkel,H.G. and Franklin,F.C. Interaction of the rheumatoid factor with antigen-antibody-complexes and aggregated gamma globulin. J. Exp. Med. 108, 105, 1958

15 Egghart,F. und Wiedermann,G. Der "Rheumatoid Arthritis Test" zur Diagnose der primär chronischen Polyarthritis. Wien. Med. Wschr. 109, 384, 1959

16 Epstein,W. Johnson,A. and Ragan,C. Observations on precipitin reaction between serum of patients with rheumatoid arthritis and a preparation (Cohn fraction II) of human gamma globulin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91, 235, 1956

17 Epstein,W. Engleman,E.P. and Ross,M. Quantitative studies on the precipitation and agglutination reactions between serum of patients with "connective tissue" diseases and a preparation (Cohn Fraction II) of human gamma globulin. J. Immunol. 79, 441, 1957

18 Ernst,O. Der Latex-Inhibitionstest in der Diagnostik der primär chronischen Polyarthritis. Münch. Med. Wschr. 105, 2185, 1963

19 Feuerstein,G. Serologische Rheumadiagnostik in der Praxis. Die Ärztl. Fortbildung. 11, 481, 1961

20 Gibson,H.J. Ling,N.R. Modified Waaler-Roose-Reaction employing sensitized human cells. Ann. Rheum. Diss. 15, 246, 1956

21 Groß,D. und Fehr,K. Serologie des Rheumatismus. Praxis, Schweiz. Rundsch. f. Med. 53, 519, 1964

22 Hall,A.P. Mednis,A.B. and Bayles,T.B. The latex agglutination and inhibition reactions; clinical experience in the diagnosis of rheumatoid arthritis. N. Engl. J. Med. 258, 731, 1958

23 Harter,F. Der Latextest und die Agglutination mit sensibilisierten Schaferythrozyten im Kältepräzipitat im Rahmen der für die primär chronische Polyarthritis charakteristischen Serumveränderungen. Z. Rheumaforsch. 18, 150, 1959

24 Heller,G. Jacobson,A.S. and Kolodny,M.H. A modification of the hemagglutination test for rheumatoid arthritis. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 72, 316, 1949

25 Heller,G. Jacobson,A.S.Kolodny,M.H. and Schuman,R.L. The hemagglutination test for rheumatoid arthritis. I. An immunological analysis of the factors involved in the reaction. J. Immunol. 69, 27, 1952

26 Heller,G. Jacobson,A.S. Kolodny,M.H. and Kammerer,W.H. The hemagglutination test for rheumatoid arthritis. II. The influence of human plasma fraction II (gamma-globulin) on the reaction. J. Immunol. 72, 66, 1954

27 Heller,G. Kolodny,M.H. Lepow,J.H. Jacobson,A.S. Rivera,M.E. and Marks,G.H. The hemagglutination test for rheumatoid arthritis. IV. Characterization of the rheumatoid agglutinating factor by analysis of serum fractions prepared by ethanol fractionation. J. Immunol. 74, 340, 1955

28 Heuberger,W. Das Verhalten des Latex-Tropfentestes (RA-Test der C-reaktiven Proteine und der Diphenylaminoreaktion bei rheumatischen Erkrankungen. Z. Rheumaforsch. 19, 116, 1960

29 Hobson,D. Goril,R.H. Agglutination test for rheumatoid arthritis. Lancet, 1, 389, 1952

30 Jacobson,A.S. Kammerer,W.H. Wolf,J. Epstein,W.V. and Heller,G. The hemagglutination test for rheumatoid arthritis. III. Clinical evaluation of the sheep erythrocyt agglutination (SEA) test and the gamma globulin (FII) test. Amer. J. Med. 20, 490, 1956

31 Köhler,W. Die Serologie des Rheumatismus und der Streptokokkeninfektionen. Joh.Ambr.Barth. Verlag, Leipzig, 1963

32 Kunkel,H.G. Müller-Eberhard,H.J. Fudenberg,H.H. and Tomasi,T.B. Gamma globulin complexes in rheumatoid arthritis and certain other conditions. J. Clin. Invest. 40, 117, 1961

33 Lamont-Havers,R.W. Nature of serum factors causing agglutination of sensitized sheep cells and a group A hemolytic streptococci. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 88, 35, 1955

34 Lane,J.J. and Decker,L.J. Latex particles slide tests in rheumatoid arthritis. J. Amer. Med. Ass. 173, 982, 1960

35 Mathies,H. Untersuchungen zur Natur und Reaktionsweise des Rheumafaktors und der Inhibitoren. Habilitationsschrift München, 1965

36 Mathies,H. und Fladerer,M. Ergebnisse mit einer Modifikation des Inhibitionstests in Verbindung mit dem Latex-Tropfentest zur serologischen Rheumadiagnostik. D. Med. Wschr. 88, 2391, 1963

37 Mathies,H. und Führnrohr,S. Die Treffer- und Fehlerquote des Latex-Fixationstestes bei Verwendung von Vollserum, Euglobulinfraktion und Kältepräzipitaten. Klin. Wschr. 40, 740, 1962

38 Mathies,H. und Helming,V. Erhöhung der Trefferquote des Latex-Fixationstestes durch fotometrische Bestimmung des Agglutinationsgrades. Klin. Wschr. 43, 1173, 1965

39 Meyer,K. Über Hämagglutininvermehrung und Hämagglutination fördernde Wirkung bei menschlichen Seren. Z. Immunitätsforsch. 34, 229, 1922

40 Micheli,A. Scheidegger,J.J. Fallet,G.H. Buzzi,C. et Spahr,J. Etude du comportement euglobulinique des facteurs agglutinants dans la polyarthrite chronique évolutive et dans d'autres affections. Bull. Acad. Suisse Sci. Med. 18, 16, 1962

41 Miehlke,K. Kruppa,K.H. und Schimanski,J. Die serologischen Reaktionen zum Nachweis des Rheumafaktors. Münch. Med. Wschr. 102, 382, 1960

42 Miehlke,K. und Puttnins,T. Der serologische Nachweis des Rheumafaktors durch den Inhibitionstest. Z. Rheumaforsch. 18, 372, 1959

43 Müller,W. Die Serologie der chronischen Polyarthritis. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962

44 Müller,W. und Hafstein,F. Die quantitative Erfassung des "Rheumafaktors" durch Präzipitation des Serums mit Gamma-Globulin im "Grenzschichtreaktiometer". Z. Klin. Med. 156, 154, 1959

45 Müller,W. und Schupp,E. Der Latex-Tropfentest (Rheumatoid-Arthritis-Test) und seine Bedeutung für die Diagnose und Differentialdiagnose chronisch rheumatischer Erkrankungen. Z. Rheumaforsch. 18, 378, 1959

46 Müller-Eberhard,H.J. Der Rheumafaktor. D. Med. Wschr. 84, 719, 1959

47 Müller-Eberhard,H.J. Franklin,E.C. und Kunkel,H.G. Das Vorkommen eines ungewöhnlichen Gamma-Globulin-Komplexes im Serum Rheumakranker. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 63, 642, 1957

48 Pike,R.M. Sulkin,S.E. Coggeshall,H.C. and Schulze,M.L. A trial of the latex fixation test for rheumatoid arthritis. Amer. J. Clin. Path. 30, 28, 1958

49 Plotz,C.M. and Singer,G.M. The latex fixation test. II. Results in rheumatoid arthritis. Amer. J. Med. 21, 893, 1956

50 Rantz,L.A. Randall,E. and Kettner,D. Electrophoretical study of serum factor responsible for serological reaction in rheumatoid arthritis with demonstration of two inhibitors. Arthr. and Rheumat. 2, 104, 1959

51 Rose,M. Ragan,C. Pearce,E. and Lipman,M.O. Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 68, 1, 1948

52 Rothermich,N.O. and Philips,V.K. The serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. J. Amer. Med. Ass. 164, 1999, 1957

53 Schierz,O. Zur serologischen Diagnose der primär chronischen Polyarthritis mit dem Hämagglutinations-Inhibitionstest. Z. Rheumaforsch. 21, 162, 1962

54 Schirmer,A. Praktische Hinweise zur Rheumaserologie. Med. Klinik. 59, 1729, 1964

55 Schubart,A.F. Cohen,A.S. and Calkins,E. Latex fixation test in rheumatoid arthritis. I. Clinical significance of a thermolabile inhibitor. N. Engl. J. Med. 261, 363, 1959

56 Schubart,A.F. The latex fixation test in rheumatoid arthritis. II. Characterization of the thermolabile inhibitor by a serologic study. N. Engl. J. Med. 261, 579, 1959

57 Sfikakis,P. and Loukopoulos,D. Serum $beta_{2M}$-globulins and serological activity in patients with rheumatoid arthritis. Z. Immun. u. Allergieforsch. 126, 332, 1964

58 Singer,J.M. and Plotz,C.M. The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. Amer. J. Med. 21, 888, 1956

59 Singer,J.M. and Plotz,C.M. The latex fixation test for rheumatoid arthritis using patients own gamma globulin. Arthr. and Rheumat. 1, 142, 1958

60 Singer,J.M. and Plotz,C.M. Slide latex fixation test. A simple screening method for the diagnosis of rheumatoid arthritis. J. Am. Med. Ass. 168, 180, 1958

61 Svartz,N. Experimental investigation into the hemagglutinating factor in blood and joint fluid in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 16, 441, 1957

62 Svartz,N. The rheumatoid factor its origin and nature. Acta Med. Scand. 168, 285, 1960

63 Svartz,N. Studies of the hemagglutinating macroglobulin in the blood in rheumatoid arthritis. Swiss. Med. J. 90, 907, 1960

64 Svartz,N. Der Rheumafaktor, seine Bedeutung und Eigenschaften. Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. 18, 1, 1962

65 Svartz,N. und Schlossmann,K. En ny serologisk reaktion vid kronisk polyarthrit. Nord. Med. Tskr. 42, 1390, 1949

66 Svartz,N. and Schlossmann,K. On substances agglutinating sheep erythrocytes obtained by fractionation of blood serum with carbon dioxyde. Acta Med. Scand. 145, 216, 1953

67 Svartz,N. and Schlossmann,K. A serum cold precipitable hemagglutinating factor in rheumatoid arthritis. Acta Med. Scand. 149, 83, 1954

68 Svartz,N. and Schlossmann,K. Cold precipitable hemagglutinating factor in serum from patients with rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 14, 191, 1955

69 Waaler,E. On the occurence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. Acta Path. Microbiol. Scand. 17, 172, 1940

70 Wager,O. On the factor produsing agglutination of sensitized red cells and its relation to the agglutination of hemolytic streptococci in rheumatoid arthritis. Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 28, Suppl. 8, 1950

71 Winblad,S. Studies on agglutination of sensitized sheep cells in rheumatic diseases. II. On the nature of the agglutinating serum factor. Acta Med. Scand. 142, 458, 1951

72 Wöhler,F. Müller,W. und hofmann,A. Über die Natur des Rheumafaktors. Z. Rheumaforsch. 19, 85, 1960

73 Zarafonetis,C.J.D. and Oster,L.H. Heterophile agglutination variability of erythrocytes from different sheep. J. Lab. Clin. Med. 34, 1216, 1946

74 Ziff,M. Agglutination reactions in rheumatoid arthritis. J. Chron. Diss. 5, 644, 1957

75 Ziff,M. Brown,P. Lospalluto,J. Badin,J. and McEwen,C. Agglutination and ihibition by serum globulin in the sensitized sheep cell aglutination reaction in rheumatoid arthritis. Am. J. Med. 20, 500, 1956

Herrn Privatdozent
Dr. med. habil. Mathies danke
ich für die Überlassung des
Themas, für seinen Rat und
für sein Interesse am
Fortschreiten der Arbeit.

Lebenslauf

Am 17. Juni 1932 wurde ich in Dresden als Sohn des Hauptmanns Maximilian Leroux und seiner Ehefrau Elfriede, geborene Ebert, geboren. Als Offizier wurde mein Vater, der 1942 in Rußland fiel, häufig versetzt, sodaß ich meine Kindheit in den Städten Freiberg in Sachsen, Mühlhausen in Thüringen und in Eisenach verlebte. In Mühlhausen besuchte ich die Volks- und Oberschule und legte 1950 an der Ernst-Abbe-Schule in Eisenach die Reifeprüfung ab. Nach einigen Monaten Praktikantentätigkeit am Krankenhaus in Eisenach verließ ich die Ostzone und begann im Sommersemester 1951 das Medizinstudium an der Ludwig-Maximilian-Universität in München. Hier legte ich auch 1959 das medizinische Staatsexamen ab.
Als Medizinalassistent arbeitete ich vom Dezember 1959 bis Oktober 1960 an der Medizinischen Poliklinik der Universität München, vom November 1960 bis Mai 1961 an der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses Siloah in Pforzheim und vom Oktober 1961 bis Juni 1962 an der gynäkologischen-geburtshilflichen Abteilung des Kreiskrankenhauses Nordholz/Wesermünde. Die Approbation erhielt ich am 7. Mai 1962. Ab August 1962 war ich zwei Jahre bis September 1964 als Assistent und Stationsarzt an der inneren Abteilung des Krankenhauses am Bürgerpark der Krankenanstalten Wesermünde in Bremerhaven tätig.
Danach übernahm ich einige Monate Vertretungen praktischer Ärzte und arbeitete in dieser Zeit auch an meiner Doktorarbeit. Seit September 1965 arbeite ich als Assistent an der Strahlenabteilung des Kreiskrankenhauses in Detmold. Mein Berufsziel ist es, die Facharztanerkennung für innere Medizin und bzw. oder die für Radiologie zu erhalten.